caractérisée par une localisation préférentiellement abdominale et des complications à type de dissection, faux chenal et rupture. Sur le plan histologique, on retrouve également une infiltration inflammatoire, une apoptose des cellules vasculaires et une dégradation de la matrice extracellulaire [7]. Plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence un lien entre le polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE DD)⁵ et l'existence d'anévrismes de l'aorte abdominale. Enfin, une étude récente a montré que l'association des polymorphismes ACE DD avec des polymorphismes du gène codant pour le récepteur du TGFβ (TGBR1, 6A) augmentait la prédisposition au développement d'anévrismes de l'aorte abdominale [8]. Nos résultats semblent donc pertinents en ce

⁵ L'ACE catalyse la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II, et ce polymorphisme est un facteur important dans la détermination de la concentration de l'ACE sérique : les taux d'ACE des individus de génotype DD sont le double de ceux des individus du génotype II.

qui concerne la pathologie anévrismale associée à l'athérosclérose, la forme la plus fréquente. En revanche, il n'est pas certain qu'ils puissent s'appliquer aux formes syndromiques d'anévrismes comme le syndrome de Marfan dont la physiopathologie est très différente.

Conclusion

Nous avons développé un modèle murin d'anévrisme qui possède de nombreuses similitudes avec la pathologie anévrismale humaine associée à l'athérosclérose. Nous avons démontré dans ce modèle le rôle protecteur du TGFβ vis-à-vis du développement d'anévrismes et de leurs complications, et l'implication des monocytes/macrophages dans la maladie, via la production de métalloprotéinases, en particulier la MMP-12. Des travaux complémentaires sont nécessaires afin de préciser le rôle d'autres populations comme les mastocytes ou les lymphocytes B. ♦

Role of TGFβ in a model of abdominal aortic aneurysm in mice

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Ernst CB. Abdominal aortic aneurysm. *N Engl J Med* 1993 ; 328 : 1167-72.
2. Loeys BL, Schwarze U, Holm T, et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF-beta receptor. *N Engl J Med* 2006 ; 355 : 788-98.
3. Neptune ER, Frischmeyer PA, Arking DE, et al. Dysregulation of TGF-beta activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome. *Nat Genet* 2003 ; 33 : 407-11.
4. Nataatmadja M, West J, West M. Overexpression of transforming growth factor-beta is associated with increased hyaluronan content and impairment of repair in Marfan syndrome aortic aneurysm. *Circulation* 2006 ; 114 : 1371-7.
5. Gorelik L, Flavell RA. Transforming growth factor-beta in T-cell biology. *Nat Rev Immunol* 2002 ; 2 : 46-53.
6. Wang Y, Ait-Oufella H, Herbin O, et al. TGF-beta activity protects against inflammatory aortic aneurysm progression and complications in angiotensin II-infused mice. *J Clin Invest* 2010 ; 120 : 422-32.
7. Koch AE, Haines GK, Rizzo RJ, et al. Human abdominal aortic aneurysms. Immunophenotypic analysis suggesting an immune-mediated response. *Am J Pathol* 1990 ; 137 : 1199-213.
8. Lucarini L, Sticchi E, Sofi F, et al. ACE and TGFBR1 genes interact in influencing the susceptibility to abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis* 2009 ; 202 : 205-10.

NOUVELLE

Identification d'une nouvelle population de cellules souches musculaires

Alice Pannérec, David Sassoon

Groupe myologie, UMR S 787 Inserm, Université Pierre et Marie Curie Paris VI, 105, boulevard de l'Hôpital, 75634 Paris Cedex 13, France.
alice.pannerec@gmail.com
david.a.sassoon@gmail.com

► Chez l'adulte, le muscle strié squelettique est composé de fibres musculaires. Ces fibres ne sont pas capables de proliférer, mais le muscle peut être régénéré grâce aux cellules souches. Les cellules satellites sont définies comme étant les cellules souches du muscle adulte puisqu'elles sont capables d'une part de se différencier en fibres musculaires permettant la régénération du muscle, et d'autre part de s'autorenouveler pour reconstituer leur niche. Les cellules satellites sont localisées entre la lame basale et la membrane plasmique des fibres, et

expriment des gènes spécifiques tels que celui codant pour le facteur de transcription Pax7 ou celui codant pour la M-cadherine [1, 2]. Lorsque le muscle subit des lésions (blessure, exercice physique ou vieillissement), les cellules souches sont activées, prolifèrent et se différencient pour former de nouvelles fibres. Chez les patients atteints de myopathies, ce processus de réparation est très affecté et l'on observe une atrophie musculaire qui est due à l'incapacité des cellules souches à régénérer correctement le muscle. Dans les années 1990, la greffe

des cellules souches fonctionnelles, en l'occurrence des cellules satellites, était envisagée pour la régénération musculaire. Des essais thérapeutiques ont été réalisés, mais les résultats n'étaient pas satisfaisants puisque la majeure partie des cellules greffées mouraient et que les autres restaient près du site d'injection [3]. Depuis, d'autres populations cellulaires douées de potentiel myogénique ont été découvertes : certaines cellules hématopoïétiques, des cellules dérivées des vaisseaux sanguins (les mésoangioblastes) ou des populations

Figure 1. Les progéniteurs musculaires. Il existe plusieurs populations de cellules souches musculaires dans le muscle strié squelettique adulte. Les plus connues et les mieux caractérisées sont les cellules satellites, situées entre la lame basale et la membrane plasmique des fibres musculaires. Mais certaines cellules hématopoïétiques, issues de la moelle osseuse, ainsi que les mésoangioblastes associés aux vaisseaux sanguins, sont également capables de régénérer le muscle. Récemment, nous avons identifié une sous-population de cellules interstitielles, les PIC (*PW1⁺ interstitial cells*), représentant de nouveaux progéniteurs musculaires.

présentes au sein du muscle telles que les cellules SP (*side population*)¹ ou exprimant l'antigène CD133 [4-7] (Figure 1). À l'exception des mésoangioblastes dont le potentiel thérapeutique est actuellement en cours d'essais cliniques, le faible nombre de ces précurseurs musculaires et la difficulté de leur obtention soulèvent des difficultés considérables pour une utilisation thérapeutique. L'amélioration des connaissances sur les cellules souches musculaires est donc primordiale pour les progrès dans le domaine des thérapies des myopathies.

Les PIC, des cellules musculaires dont le potentiel myogénique dépend de Pax7

De précédentes études de notre laboratoire nous ont amenés à considérer le gène *PW1* comme un marqueur précoce de la voie musculaire [8]. Dans le muscle strié squelettique, nous avons remarqué que *PW1* (qui code pour une protéine à doigts de zinc) est exprimé non seulement par les cellules satellites,

mais également par une sous-catégorie de cellules interstitielles appelées PIC (*PW1⁺ interstitial cells*) (Figure 1). Cependant, contrairement aux cellules satellites, les PIC n'expriment aucun gène relatif au lignage myogénique. Grâce à une technique de séparation des cellules par cytométrie de flux, les PIC et les cellules satellites du muscle peuvent être isolées séparément ce qui permet d'étudier leurs caractéristiques *in vitro*. Lorsqu'elles sont placées dans des conditions de culture favorables à la différenciation myogénique, chacune de ces populations active les gènes du lignage myogénique (*Pax7*, *MyoD*) puis donne naissance à des myotubes par fusion des cellules entre elles [9].

Pax7 est un marqueur des cellules satellites, mais son rôle dans la spécification des cellules satellites et des PIC reste mal compris. Chez les souris invalidées pour le gène *Pax7* (*Pax7^{-/-}*) le nombre de cellules satellites décroît rapidement après la naissance, et les muscles de ces souris sont extrêmement petits et faibles, conduisant généralement à la mort de l'animal en quelques semaines [2]. À l'inverse, on dénombre deux fois plus de PIC chez ces animaux que chez des souris saines. Alors que les cellules satellites issues d'animaux *Pax7^{-/-}* sont

parfaitement myogéniques, les PIC sont incapables de se différencier en myotubes, suggérant que *Pax7* est nécessaire à la spécification des PIC dans la voie myogénique lors de la croissance post-natale [9]. Au vu de ces résultats, nous nous sommes demandé si les PIC étaient issues des précurseurs musculaires embryonnaires caractérisés par l'expression des gènes *Pax3* et *Pax7* comme le sont les cellules satellites.

Les PIC sont distinctes des cellules satellites et possèdent une grande capacité de régénération

Chez les vertébrés, les cellules musculaires squelettiques dérivent d'un tissu embryonnaire nommé mésoderme. Au cours du développement, le mésoderme se sépare en deux régions (la tête et le tronc) puis est segmenté le long du tube neural pour former des structures métamériques appelées somites. À ce niveau, certaines cellules exprimant le facteur de transcription *Pax3* migrent progressivement vers les bourgeons des membres où elles forment les premières fibres musculaires embryonnaires. Ces myoblastes (*Pax3⁺*) sont également à l'origine des cellules satellites chez l'adulte [10]. Pour savoir si les PIC sont

¹ On appelle *side population* une petite fraction de cellules détectées comme non fluorescentes après marquage cellulaire au Hoechst 33342 et analyse au cytomètre de flux dans les deux longueurs d'émission de fluorescence rouge et verte ; cette fraction, présente dans plusieurs tissus, est souvent enrichie en cellules souches. La négativité s'explique par les propriétés de ces cellules d'effluer le Hoechst fluorescent.

issues du même lignage que les cellules satellites, il suffit donc de déterminer si elles proviennent de cellules ayant exprimé le gène *Pax3*. Pour cela, nous avons réalisé des expériences de suivi des lignages cellulaires chez la souris en utilisant des souris génétiquement modifiées (souris *Pax3-Cre knock-in* croisées avec des souris *R26R3-LacZ*, exprimant le gène de la β -galactosidase à partir du locus *Rosa26*) permettant de suivre l'expression du gène *Pax3* : chaque cellule ayant exprimé *Pax3* à un moment donné exprimera définitivement *LacZ* (cellule bleue). Ainsi, dans le muscle post-natal de ces animaux, toutes les fibres musculaires et les cellules satellites apparaissent bleues [10]. À l'inverse, il n'y a aucune cellule bleue dans le tissu interstitiel : les PIC n'ont donc jamais exprimé *Pax3*. Nous concluons que les PIC ne partagent pas la même origine embryonnaire que les cellules satellites et que, par conséquent, elles constituent une nouvelle population myogénique bien distincte des cellules satellites. Ces résultats suggèrent également que les PIC sont capables de générer des cellules satellites dans le muscle post-natal.

Après avoir démontré le potentiel myogénique des PIC *in vitro*, nous l'avons exploré *in vivo* : nous avons injecté des PIC dans des muscles de souris préalablement blessés et dont la réparation requiert une régénération tissulaire massive (Figure 2). Afin de pouvoir suivre les cellules injectées dans l'animal receveur, nous avons isolé les PIC et les cellules satellites de souris exprimant un gène rapporteur (*LacZ*). Des PIC ou des cellules satellites ont été injectées dans les muscles détruits, et 2 semaines plus tard – afin de laisser le temps nécessaire à la régénération musculaire –, les animaux ont été sacrifiés. Nous avons alors constaté que les muscles dans lesquels des PIC avaient été greffées contenaient autant de fibres exprimant le gène rapporteur que les muscles greffés avec les cellules satellites. Les PIC ont donc un potentiel myogénique *in vivo* semblable à celui des cellules satellites. Par ailleurs, elles sont, comme les cellules satellites, capables de reconstituer leur niche (Figure 2). En effet, dans les muscles greffés avec des PIC, nous avons retrouvé des cellules exprimant le gène rapporteur en position intersti-

tielle. Ces cellules expriment également *PW1*, comme les PIC. Dans ces mêmes muscles, nous avons également trouvé des cellules exprimant le gène rapporteur en position satellite, démontrant que les PIC injectées ont aussi formé des cellules satellites. Il est néanmoins important de préciser que nous n'avons pas trouvé de PIC exprimant le gène rapporteur dans les muscles injectés avec des cellules satellites, démontrant que les cellules satellites ne peuvent pas donner naissance à des PIC *in vivo*. Ces résultats non seulement démontrent la capacité des PIC à régénérer le muscle, mais ils suggèrent également que les PIC constituent une population de cellules moins déterminées et plus « souches » que les cellules satellites dans la hiérarchie du lignage myogénique (Figure 2).

Conclusion

Nous avons mis en évidence une nouvelle population de progéniteurs musculaires, les PIC, définis par leur localisation interstitielle et l'expression du gène *PW1*. Les PIC sont myogéniques *in vitro* et contribuent de façon importante à la régénération du muscle *in vivo*, et

Figure 2. Les PIC ont un fort potentiel myogénique *in vivo*. Afin de tester le potentiel myogénique des PIC, nous avons injecté des cellules exprimant un gène rapporteur (*LacZ*) dans des souris dont les muscles ont préalablement été blessés (A). Après 2 semaines, période nécessaire à la régénération, l'expression du gène rapporteur a été analysée dans les muscles. Nos résultats démontrent que les PIC ont la même capacité de régénération que les cellules satellites, s'autorenouvellent et sont également capables de former des cellules satellites (B). Ceci suggère que, dans la hiérarchie, les PIC se situent en amont des cellules satellites (C).

reconstituent également leur niche. Bien que Pax7 soit nécessaire à la spécification myogénique des PIC, ces dernières ne dérivent pas du même lignage que les cellules satellites et semblent être plus immatures. Les PIC constituent donc de nouveaux candidats pour la thérapie cellulaire des myopathies. ♦

**PICs (PW1⁺ interstitial cells),
a new muscle stem cell population**

REMERCIEMENTS

Le travail présenté ici a été réalisé grâce au soutien du NIH (NCI PO1 CA80058-06, sous-projet 3), the Muscular dystrophy association of America, the European community's seventh framework programme OPTISTEM (F5-2009-223098), l'Association française contre les myopathies, et une chaire d'excel-

lence accordée à David Sassoon par le ministère de la Recherche. Nous remercions le Dr Rattenbach pour son aide pour la rédaction de cet article.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 1961 ; 9 : 493-5.
2. Seale P, Sabourin LA, Girgis-Gabardo A, et al. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell* 2000 ; 102 : 777-86.
3. Péault B, Rudnicki M, Torrente Y, et al. Stem and progenitor cells in skeletal muscle development, maintenance and therapy. *Mol Ther* 2007 ; 5 : 867-77.
4. LaBarge MA, Blau HM. Biological progression from adult bone marrow to mononucleate muscle stem cell to multinucleate muscle fiber in response to injury. *Cell* 2002 ; 111 : 589-601.
5. De Angelis L, Berghella L, Coletta M, et al. Skeletal myogenic progenitors originating from embryonic dorsal aorta coexpress endothelial and myogenic markers and contribute to postnatal muscle growth and regeneration. *J Cell Biol* 1999 ; 147 : 869-78.
6. Asakura A, Seale P, Girgis-Gabardo A, Rudnicki MA. Myogenic specification of side population cells in skeletal muscle. *J Cell Biol* 2002 ; 159 : 123-34.
7. Torrente Y, Belicchi M, Sampaioles M, et al. Human circulating AC133⁺ stem cells restore dystrophin expression and ameliorate function in dystrophic skeletal muscle. *J Clin Invest* 2004 ; 114 : 182-95.
8. Relaix F, Weng X, Marazzi G, et al. Pw1, a novel zinc finger gene implicated in the myogenic and neuronal lineages. *Dev Biol* 1996 ; 177 : 383-96.
9. Mitchell KJ, Pannier A, Cadot B, et al. Identification and characterization of a non-satellite cell muscle resident progenitor during postnatal development. *Nat Cell Biol* 2010 ; 12 : 257-66.
10. Relaix F, Rocancourt D, Mansouri A, Buckingham MA. Pax3/Pax7-dependent population of skeletal muscle progenitor cells. *Nature* 2005 ; 435 : 948-53.

NOUVELLE

GRK6, une nouvelle piste thérapeutique pour diminuer les dyskinésies induites par la L-dopa

Dyskinésies induites par le traitement de la maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative caractérisée notamment par la perte progressive des neurones dopaminergiques pigmentés de la substance noire [1]. Cliniquement, le syndrome parkinsonien repose sur une triade de symptômes moteurs associant akinésie/bradykinésie (difficulté à l'initiation des mouvements et ralentissement de leur exécution), rigidité et tremblement de repos. Ces manifestations cliniques s'associent différemment selon les patients. Les traitements de la maladie de Parkinson ont pour objectif de remplacer la dopamine par l'utilisation, soit d'agonistes dopaminergiques, soit de la L-dopa, un précurseur de la dopamine. Ces traitements sont effi-

caces pendant quelques années mais restent toutefois insatisfaisants. Non seulement ils ne résolvent pas l'ensemble des problèmes rencontrés par les patients, mais ils induisent des complications motrices appelées dyskinésies, ensemble de mouvements anormaux involontaires, et des fluctuations dans la réponse au traitement [2].

À ce jour, il n'existe pas de traitement efficace des dyskinésies induites par la L-dopa mais seulement des stratégies dilatoires. La première vise à retarder l'exposition à la L-dopa par un traitement à base d'agonistes dopaminergiques. Ce traitement peut être administré seul ou en association avec la L-dopa au cours de la phase initiale de la maladie. La seconde tend à stabiliser les taux de L-dopa en la remplaçant par des formes

retard ou en réduisant sa dégradation grâce à l'association d'inhibiteurs de la catéchol-O-méthyl-transférase (entacapone) ou d'inhibiteurs de la monoamine oxydase B (sélégiline, rasagiline). La troisième a recours à l'amantadine, la seule molécule anti-dyskinétique disponible, quoique d'efficacité limitée et source d'effets secondaires psychogéniques indésirables. Enfin, lorsque ces approches n'ont plus d'effet, une intervention neurochirurgicale est proposée telle que la stimulation cérébrale profonde du noyau sous-thalamique.

Rôle central des récepteurs à la dopamine dans l'apparition des dyskinésies

Notre connaissance des mécanismes cellulaires impliqués dans la physio-

Université Victor Segalen-Bordeaux 2,
Centre national de la recherche scientifique,
Institut des neurosciences de Bordeaux,
UMR 5227, 33000 Bordeaux, France.
erwan.bezard@u-bordeaux2.fr